Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 2, May-June 2023, p. 365-381

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۲، خرداد- تیر ۱۴۰۲ ص. ۳۸۱-۳۶۵

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir
Research Paper

Effect of Ultrasonic Waves on Structural, Functional and Rheological Properties of Locust Bean Gum

S. Farizadeh[1], H. Abbasi[2*]

Received: 2022.02.09
Revised: 2022.05.11
Accepted: 2022.05.18
Available Online: 2022.05.18

How to cite this article:
Farizadeh, S., & Abbasi, H. (2023). Effect of ultrasonic waves on structural, functional and rheological properties of locust bean gum. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *19*(2), 365-381. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74595.1133

Introduction

Hydrocolloid is a term refers to all polysaccharides extracted from plants, seeds, and microbial sources that regardless of their biological and nutritional role has various functional properties in food products such as concentration and gel production of aqueous solutions, stabilization of foam, emulsions and dispersed systems, prevention of ice and sugar crystals, control of the release of flavor compounds and consequently control and improve food quality. Ultrasound has been widely used in the food industry due to its numerous physical and chemical effects. The effect of ultrasound is due to cavitation, heating, dynamic mobility and shear stresses to the sample. Today, ultrasound is used as a green new technology with unique effects on food storage and processing. One of the newest applications of ultrasound is altering the structure of polymers such as polysaccharides. Changes in the structure of hydrocolloids lead to modification in their functional properties.

Materials and Methods

In this study, effect of ultrasonic waves, time (0-90 min) and processing temperature (25-75 °C) on physicochemical, rheological and functional properties of locust bean gum was investigated. In this regards, different parameters including changes in pH, solubility, minimum gelatinization concentration, viscosity and emulsifying properties (Emulsifying capacity, emulsion stability and particle dimensions) of treated locust bean gum were determined. Response surface methodology in central composite design was used to evaluate the effect of independent variables on qualitative properties of locust bean gum and model their changes. The best treatment condition was determined and the optimum treated samples were evaluated and compared in microstructure using scanning electron microscopy, rheological properties (rotational and oscillatory test) and Fourier transform infra-red.

Results and Discussion

The results showed that with increasing the time of ultrasound treatment, pH, and viscosity of the hydrocolloid decreased and its solubility and minimum gel concentration increased. However, with increasing temperature, pH, minimum gelatinization concentration and hydrocolloid viscosity increased and its solubility decreased. Optimization of treatment conditions was performed by considering the achievement of the best hydrocolloid performance characteristics. Two different temperature and time conditions were proposed for the desirable treatment of the hydrocolloid using ultrasound. In the first case, the selection criteria were to achieve the best solubility and emulsifying

1 and 2- M.Sc. Graduate and Associate Professor in Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran,respectively.
(*- Corresponding Author Email: h.abbasi@Khuisf.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.2022.74595.1133

properties of the hydrocolloid, and in the second case, the selection criteria were solubility and emulsifying properties improvement while maintaining the gelatinization properties of the hydrocolloid. Based on the desired quality factors, optimization was performed and the results showed that in the first optimal sample (treated at 40 ° C and 48.9 minutes), solubility and emulsifying properties and in the second optimal sample (treated at 66.67 ° C and 15 Min) by maintaining the gelation properties of hydrocolloid, the solubility of the hydrocolloid increased significantly. The performance of treated samples validated developed models. SEM results showed that the ultrasound increased three-dimensional structure of gum. The smaller microscopic structure was observed in untreated sample and the larger one was in treated with ultrasonic waves for 40.9 minutes at 40 ° C. Therefore, ultrasound caused agglomeration of treated freeze dried gum. It is noteworthy that several holes observed in the structure of treated gum with ultrasonic, which can increase solubility of the gum. The flow behavior of the sonicated and control samples showed that the viscosity of all samples decreased with increasing shear rate, which indicates their pseudoplastic behavior. At low shear rates (about 0.01 per second), the viscosity of the control sample was higher than that of the sonicated samples. However, at high shear rates (about 40 per second), viscosity of the three samples were almost the same. Therefore, the control sample was more affective to shear rate compared to the treated samples. The modulus of elasticity (G ') and viscosity (G' ') of the treated specimens were lower compared to the control. Also, the frequency sweep of samples shown that in the frequency range under study, G 'and G" were frequency dependent and with increasing frequency, the amount of these two parameters increased. This observation indicates the influence of rheological properties of the samples on the frequency changes that are commonly observed in suspensions. At low frequencies, the predominance of viscous behavior over elastic was observed in all three control and ultrasonic samples (G "> G ') and this feature was higher in the treated samples than the control. The modulus of elasticity and viscosity of the treated sample for 49 minutes was lower than other treated samples for 15 minutes, which shows the effect of ultrasound on the rheological properties of the hydrocolloid.

Conclusion

The results of this study showed that ultrasonic waves provide a good opportunity to change the physical and functional properties of carob seed gum. It is possible to significantly improve the solubility and emulsifying activity of this hydrocolloid using ultrasound. It is necessary to determine the treatment conditions of the sample according to the intended application.

Keywords: Locust bean gum, Rheology, Solubility, Ultrasound, Viscosity

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 2, May-June 2023, p. 365-381

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۲، خرداد - تیر ۱۴۰۲ ص. ۳۸۱-۳۶۵

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر امواج فراصوت بر ویژگی‌های ساختاری، عملکردی و رئولوژیکی صمغ دانه خرنوب

سمیرا فریزاده[۱]- هاجر عباسی[۲]*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

چکیده

هیدروکلوئیدها یکی از فراوان‌ترین بیوپلیمرهای موجود در طبیعت هستند که در صنعت غذا به عنوان ترکیبات عملگرا به منظور کنترل ساختار، بافت، طعم و افزایش انبارمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این مطالعه، تاثیر اعمال امواج فراصوت در دما (۲۵-۷۵ درجه سانتیگراد) و زمان‌های (۰-۹۰ دقیقه) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژی و عملکردی صمغ دانه خرنوب ازجمله تغییرات pH، حلالیت، حداقل غلظت ژل‌شوندگی، ویسکوزیته و ویژگی‌های امولسیون کنندگی (ظرفیت امولسیون کنندگی، پایداری امولسیون و ابعاد ذرات امولسیون) مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت و طرح مرکب مرکزی جهت ارزیابی تاثیر متغیرها و مدلسازی آنها استفاده شد. تغییرات میکروسکوپی، رئولوژیکی و طیف‌سنجی مادون قرمز نمونه‌های بهینه بررسی و با نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج نشان داد که با افزایش زمان اعمال امواج فراصوت، pH، و ویسکوزیته هیدروکلوئید کاهش و حلالیت و حداقل غلظت ژل‌شوندگی آن افزایش می‌یابد. درحالیکه، با افزایش دما، pH، حداقل غلظت ژل‌شوندگی و ویسکوزیته هیدروکلوئید افزایش و حلالیت آن کاهش می‌یابد. بر این اساس دو شرایط متفاوت دمایی و زمانی برای تیمار کردن هیدروکلوئید موردنظر با استفاده از امواج فراصوت پیشنهاد گردید که در حالت اول معیار انتخاب، دستیابی به بهترین شرایط حلالیت و ویژگی‌های امولسیون کنندگی این هیدروکلوئید و در حالت دوم، ملاک انتخاب شرایط، بهبود حلالیت و خصوصیات امولسیون‌کنندگی هیدروکلوئید هم‌گام با حفظ ویسکوزیته محلول هیدوکلوئید موردنظر بود. در بهینه اول (دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۸/۹ دقیقه)، حلالیت و خصوصیات امولسیون‌کنندگی و در نمونه بهینه دوم (دما ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) با حفظ حداقل غلظت ژل شوندگی، حلالیت هیدروکلوئید افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش نشان داد که امکان تغییر و اصلاح ویژگی‌های کیفی هیدروکلوئید با استفاده از امواج اولتراسونیک و با توجه به فاکتورهای موردنظر وجود دارد و شرایط انجام فرایند بسته به کاربرد موردنظر از آن هیدروکلوئید می‌تواند متفاوت درنظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: حلالیت، رئولوژی، صمغ دانه خرنوب، فراصوت، ویسکوزیته

مقدمه

کربوهیدرات‌ها یا پلی‌ساکاریدها یکی از فراوان‌ترین بیوپلیمرهای موجود در طبیعت هستند که در صنعت غذا به‌عنوان ترکیباتی عملگرا به منظور کنترل ساختار، بافت، طعم و افزایش انبارمانی محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند. واژه هیدروکلوئید اصطلاحی است که به کلیه پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از گیاهان، دانه‌ها و منابع میکروبی اطلاق می‌شود که صرف‌نظر از نقش‌های بیولوژیکی و تغذیه‌ای، به‌واسطه ویژگی‌های عملکردی متنوع ازجمله تغلیظ‌کنندگی و ایجاد ژل در محلول‌های آبی، پایدارسازی کف، امولسیون و سیستم‌های پراکنده، جلوگیری از ایجاد بلورهای یخ و قند، کنترل آزادسازی ترکیبات طعم‌زا و غیره، در صنایع مختلف به ویژه صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Dickinson, 2009; Dickinson, 2003).

۱ و ۲- به‌ترتیب فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: h.abbasi@Khuisf.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.2022.74595.1133

امواج فراصوت[1] به واسطه دارا بودن اثرات فیزیکی و شیمیایی متعدد به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده شده است. اثر فراصوت ناشی از حفره‌زایی[2]، حرارت‌دهی، تحرک دینامیک، اعمال تنش‌های برشی و حالت غلیانی[3] در نمونه است (Camino *et al.*, 2009). امروزه امواج فراصوت به عنوان یک تکنولوژی جدید و دارای اثرات منحصر به فرد در نگهداری و فرایند مواد غذایی استفاده می‌شود (Mason *et al.*, 1996). یکی از جدیدترین کاربردهای فراصوت، اعمال تغییر در ساختار پلیمرها است. شکست پلیمرها به دلیل تخریب مکانیکی آنها به واسطه حباب‌های متلاشی شده و تخریب شیمیایی آنها به‌واسطه واکنش میان پلیمر و مولکول‌هایی از جمله رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدی از فرایند کاویتاسیون از مهمترین تغییرات ایجاد شده در ساختار پلیمرهاست. اخیراً، مطالعات متنوعی در این خصوص بر انواع پلی‌ساکاریدها به منظور تغییر هدفمند ویژگی‌های عملکردی آنها صورت گرفته است (Wang *et al*,. 2010; Farzi *et al.*, 2011; Peres *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017). در این راستا، وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2016) گزارش کردند که اعمال ۱۰ دقیقه امواج فراصوت با شدت بالا موجب کاهش ۸۵ درصدی ویسکوزیته ظاهری و ذاتی اگزوپلی‌ساکاریدهای قارچی و افزایش چهار برابری حلالیت آنها می‌شود و در این شرایط، توزیع وزن مولکولی پلیمر یکنواخت‌تر می‌گردد. محققین دیگری دریافتند که ویسکوزیته و ابعاد ذرات پلیمر با اعمال کوتاه مدت امواج فراصوت بر محلول گونه‌های مختلف از صمغ کتیرا، افزایش و با طولانی‌تر شدن فرایند، کاهش می‌یابد. این مشاهده به توده‌ای شدن و متلاشی شدن ذرات این هیدروکلوئید نسبت داده شده است (Farzi *et al.*, 2011). مجاورت محلول صمغ کنجاک با امواج فراصوت، اگرچه تغییر قابل شناسایی توسط FTIR در ساختار پلیمر ایجاد نمی‌کند، کاهش مدول ذخیره (G')، مدول افت (G'') و افزایش فاکتور اختلاف فاز محلول را منجر می‌گردد (Li *et al.*, 2017). عملکرد متفاوت امواج فراصوت بر پلیمرهای مختلف، به‌دلیل تفاوت در ساختار اولیه پلیمر و نحوه تاثیرپذیری آن‌ها و شدت امواج اعمال شده بر آنهاست.

دانه خرنوب[4] (*Ceratonia siliqua* L.) دارای صمغی سفید تا کرم رنگ است که از آسیاب آندوسپرم دانه درخت کاروب[5] بدست می‌آید. این گیاه متعلق به خانواده حبوبات است که در نواحی مدیترانه یافت می‌شوند. این صمغ به واسطه دارا بودن احساس دهانی مناسب به‌عنوان قوام دهنده، پایدارکننده و ژل‌دهنده محصولات غذایی مختلف همچون محصولات صنایع پخت، نوشیدنی‌ها، محصولات لبنی و میوه‌های فرایند شده ازجمله پنیر خامه‌ای، انواع سس‌ها، بستنی، ماست و فیلم‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Barak *et al.*, 2014; Prajapat *et al.*, 2015). در این مطالعه به منظور بررسی و بهبود خصوصیات عملکردی این هیدروکلوئید و با توجه به فقدان مطالعات کافی در این خصوص، تاثیر اعمال امواج فراصوت در زمان‌های مختلف (۰–۹۰ دقیقه) و دمای (۲۵–۷۵ درجه سانتیگراد) بر ویژگی‌های کیفی صمغ دانه خرنوب مدل‌سازی و مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیب زمان و دما در تیمارهای مختلف با استفاده از روش سطح پاسخ–طرح مرکب مرکزی تنظیم گردید. با توجه به تغییرات اعمال شده و ویژگی‌های کیفی مورد نظر، شرایط بهینه اعمال تیمار بر این هیدروکلوئید مشخص گردید.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد استفاده

صمغ دانه خرنوب از شرکت سیگما[6] خریداری و تا زمان استفاده در دمای یخچال و در بسته‌بندی غیر قابل نفوذ به رطوبت، نگهداری شد. روغن سویا از شرکت نگین (همدان، ایران) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) تهیه شد.

اعمال تیمار فراصوت

ابتدا محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی تهیه و در حمام فراصوت (مدل پاناسونیک 15s، پارس نهاند، ایران) مطابق زمان و دمای ارائه شده در جدول ۱ برای تیمارهای مختلف، در مجاورت امواج قرار گرفتند. سپس محلول‌های حاصل در خشک‌کن انجمادی (شرکت دنا وکیوم، ایران)، خشک و ارزیابی کیفی آنها انجام گردید.

ارزیابی ویژگی‌های کیفی نمونه‌های تیمار شده

pH

pH محلول‌های ۰/۵ درصد وزنی/وزنی صمغ دانه خرنوب با استفاده از pH متر (DIGITAL pH, MV, TEMP, METER, Taiwan) اندازه‌گیری شد (Peres *et al.*, 2015).

حلالیت

۴۰ میلی‌لیتر محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی تهیه و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و با سرعت g

1- Ultrasound
2- Cavitation
3- Turbulence
4- Locust Bean Gum
5- Carob
6- Sigma

۲۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (Hertolab model, Germany) شد. ماده خشک موجود در فاز رویی محلول پس از خشک کردن در آون (Heraeus, UT505E model, Germany) (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری و حلالیت صمغ مطابق رابطه ۱ محاسبه گردید (Samari *et al*., 2013).

$$\text{درصد حلالیت} = \frac{\text{میزان ماده خشک موجود در فاز رویی (گرم)}}{\text{ماده خشک کل (گرم)}} \times ۱۰۰ \qquad (\text{رابطه ۱})$$

ارزیابی خصوصیات امولسیون کنندگی

امولسیون ۲۰ درصد وزنی/وزنی روغن سویا در محلول‌های ۰/۵ درصد وزنی/وزنی صمغ دانه خرنوب با استفاده از هموژنایزر (شرکت تجهیز صنعت نصر، ایران) با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه در مدت زمان ۲ دقیقه تهیه شد (Huang *et al*., 2001).

توزیع ابعاد ذرات امولسیون

نسبت ابعاد ذرات امولسیون‌های رقیق شده با آب مقطر در مقابل فراوانی آنها با برخورد اشعه لیزر توسط دستگاه (VASCO, France، Particle sizer (CORDOUAN TECHNOLOGIES اندازه‌گیری شد (Camino *et al*., 2009).

ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون

به‌منظور ارزیابی پایداری امولسیون‌ها، ۱۵ میلی‌لیتر از امولسیون‌های تولید شده توسط سانتریفیوژ (Sigma 6-16K model, Germany) با دور ۱۳۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. ظرفیت امولسیون کنندگی مطابق معادله ۲ محاسبه گردید (Mishra *et al*., 2001).

۱۰۰×(ارتفاع کل/ارتفاع امولسیون بعد از سانتریفیوژ) = ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون

(رابطه ۲)

جهت ارزیابی پایداری امولسیون‌ها، پس از نیم ساعت حرارت‌دهی آنها در حمام آب (WB22 model, Memmert, Germany) ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه و سرد کردن آنها در مخلوط آب و یخ، امولسیون‌ها به مدت ۵ دقیقه (۱۳۰۰g) سانتریفیوژ شدند و پایداری آنها مطابق رابطه ۲ محاسبه گردید (Mishra *et al*., 2001).

حداقل غلظت ژل شوندگی

محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت‌های ۰/۸، ۰/۹، ۰/۹۵، ۱/۰۰، ۱/۰۵، ۱/۱۰، ۱/۱۵، ۱/۲۰ و ۱/۲۵ درصد وزنی/وزنی تهیه و بعد از حرارت‌دهی در حمام و انحلال کامل، ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند. حداقل غلظت صمغ جهت تشکیل ژل، معادل غلظتی که با وارونه کردن لوله‌ها، جریان یافتن محتویات آن صورت نمی‌گیرد،ارزیابی شد (Razavi *et al*., 2011).

اندازه گیری ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری محلول‌های صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی با استفاده از ویسکومتر چرخشی (Thermo Haake, ViscoTester 7L, Germany) در سرعت برشی ۱۰۰ دور بر دقیقه و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد با اسپیندل[1] شماره ۲ ارزیابی شد (Camino *et al*., 2009).

پس از مدلسازی و بررسی تاثیر متغیرهای مستقل این پژوهش بر تغییرات خصوصیات کیفی هیدروکلوئید، بهینه‌یابی بر اساس دستیابی به بهترین ویژگی‌های عملکردی صورت گرفت. در مرحله ارزیابی کیفی نمونه‌های منتخب و مقایسه آن‌ها با نمونه شاهد، علاوه بر فاکتورهای ذکر شده، مطالعه طیف مادون قرمز، تصویر میکروسکوپ الکترونی و خصوصیات رئولوژیکی دینامیک آنها نیز مورد مطالعه قرار گرفتند. در ادامه به توصیف روش‌های مورد استفاده در این خصوص می‌پردازیم.

طیف سنجی مادون قرمز[2]

طیف مادون قرمز نمونه‌های مخلوط و آسیاب شده به نسبت ۱:۱۰۰ با پتاسیم بروماید، با استفاده از دستگاه FTIR (FT/IR-6300, Jasco model, Japan) در محدوده فرکانس $۴۰۰۰\ cm^{-1}$– ۴۰۰ به دست آمد. دقت عملکرد دستگاه $۴\ cm^{-1}$ انتخاب شد (Li *et al*., 2017).

تصویر میکروسکوپ روبشی[3]

جهت بررسی ریزساختار نمونه‌ها، مقدار معینی از آنها روی نوار آلومینیمی پراکنده و بعد از پوشش‌دهی با طلا/پالادیوم، عکس‌برداری آنها در پتانسیل ۱۰ کیلو ولت (Zeiss model, Germany) انجام شد (Feng *et al*., 2017).

آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک (پایا و نوسانی)

محلول‌های صمغ دانه خرنوب (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) با پراکنده کردن پودر صمغ در آب مقطر تهیه و به مدت ۲ ساعت در سرعت

1- Spindle
2- FTIR
3- SEM

rpm ۳۰۰ همزده شدند تا کامل هیدراته شوند. محلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت به منظور هیدراتاسیون کامل در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. ارزیابی خصوصیات رئولوژیکی با استفاده از دستگاه رئومتر (Anton Paar GmbH, Physica MCR 301, Austria) انجام شد. درجه حرارت سیستم با سیرکولاسیون آب بر ۰/۰۱±۲۵ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. رفتار جریانی نمونه‌ها در سرعت برش ۶۰۰-۰/۰۱ عکس ثانیه در ۲۵ نقطه و با ۵ ثانیه تأخیر قبل از شروع به کار دستگاه ارزیابی شد. به منظور انجام آزمون روبش فرکانس، ابتدا ناحیه ویسکوالاستیک خطی نمونه در محدوده کرنش ۰/۰۱-۱۰۰ ٪ و فرکانس ثابت ۱ هرتز ارزیابی و سپس در کرنش ۰/۰۱ و فرکانس ۰/۱-۱۰۰ هرتز مدول‌های ذخیره یا الاستیک (G') و افت یا گرانرو (G'') ثبت گردیدند (Farzi *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح آماری سطح پاسخ (مرکب مرکزی) با ۴ نقطه مرکزی توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ورژن ۹ (Design Expert V 9.0) انجام گرفت. متغیرهای مستقل پژوهش، زمان اعمال امواج فراصوت (۰-۹۰ دقیقه) و دمای محلول در حین فرایند (۲۵-۷۵ درجه سانتیگراد) و متغیرهای وابسته pH، حلالیت، خصوصیات امولسیون کنندگی، حداقل غلظت ژل دادن و ویسکوزیته ظاهری در نظر گرفته شدند. ترکیب متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نمایش داده شده است. برای هر متغیر وابسته مدلی ارائه شد و اثرات اصلی و متقابل متغیرهای مستقل بررسی شد. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل بر مبنای تغییرات ایجاد شده در متغیرهای وابسته مدلسازی و درصد خطای مدل‌ها محاسبه گردید. نمونه‌های منتخب و شاهد در قالب طرح کاملا تصادفی با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

pH

مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۲، تاثیر مثبت دما و تاثیر منفی زمان فرایند بر تغییرات pH نمونه معنی‌دار ($p<0.05$) ارزیابی شد. افزایش زمان فراصوت با تشکیل رادیکال‌های آزاد در محلول باعث کاهش pH گردید. درواقع افزایش زمان اعمال امواج فراصوت باعث تشدید فرایند حفره‌زایی و تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردد. در این راستا، کاهش pH و افزایش ضریب هدایت الکتریکی محلول آمیلوپکتین تیمارشده با امواج فراصوت در مقایسه با نمونه شاهد گزارش شده است (Peres *et al*., 2015).

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل در تیمار صمغ دانه خرنوب با استفاده از امواج فراصوت

Table 1- Levels of independent variables in treatments of Locust bean gum using ultrasounic waves

Treatment number شماره تیمار	Independent variables متغیرهای مستقل	
	Time (min) زمان	Temperature (°C) دما
1	45	50
2	75	33
3	90	50
4	45	25
5	45	50
6	0	50
7	45	50
8	45	75
9	45	50
10	45	33
11	15	33
12	75	67
13	15	67
Blank (شاهد)	0	25

تغییرات حلالیت

مطابق مدل درجه دوم ارائه شده که ضرایب آن در جدول ۲ گزارش شده است، افزایش زمان اعمال فراصوت و دمای محلول به ترتیب تاثیر افزاینده و کاهنده معنی‌دار (p<۰/۰۵) بر حلالیت هیدروکلوئید موردنظر دارد. هرچند افزایش بیشتر زمان اعمال تیمار فراصوت تاثیر معکوس بر حلالیت هیدروکلوئید نشان داد. تاثیر متقابل دو فاکتور در شکل ۱ نیز نشان می‌دهد که با افزایش همزمان اعمال فراصوت و افزایش دما خصوصا در زمان‌های بالاتر اعمال امواج، حلالیت هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. امواج فراصوت با ایجاد انعطاف‌پذیری در زنجیرهای مولکولی، کاهش شعاع و وزن مولکولی پلیمر در محلول، موجبات حلالیت بیشتر هیدروکلوئید را فراهم می‌کنند (Peres *et al*., 2015). افزایش زمان و فرکانس امواج فراصوت می‌تواند موجبات تشکیل پیوندهای کووالانسی بین مولکول-های کوچک ایجاد شده یا برهمکنش‌های غیر کووالانسی همچون اتصالات الکترواستاتیک را فراهم می‌کند (Feng *et al*., 2017) . ازاین‌رو، کاهش حلالیت پلی‌مر در زمان‌های بالاتر اعمال امواج فراصوت و دمای بالا می‌تواند به‌دلیل ایجاد برهمکنش‌های بین مولکولی و درون مولکولی در این هیدروکلوئید باشد. در این راستادانشمندانی بازآرایی مولکول‌های آلژینات سدیم طی اعمال فرایند فراصوت را گزارش کردند (Feng *et al*., 2017). در این راستا گزارش شده است که اعمال امواج اولتراسونیک با استفاده از هر دو سیستم پروبی و حمامی بر نشاسته گندم موجبات افزایش حلالیت آن را فراهم می‌کند. درحالیکه افزایش شدت امواج فراصوت درنشاسته سیب زمینی موجب کاهش حلالیت خمیر نشاسته آن گردید (Sujka *et al*., 2013). تفاوت در ساختار پلیمر اصلی، نحوه اعمال امواج و قدرت آنها دلیل اصلی تفاوت در نتایج حاصل شده از پژوهش‌های متعدد است.

ویسکوزیته

در مدل خطی پیشنهاد شده برای تغیرات ویسکوز، اثر زمان و دمای اعمال فرایند در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار ارزیابی می‌شود (جدول ۲). با افزایش زمان و دما به ترتیب ویسکوزیته محلول پلیمر کاهش و افزایش می‌یابد. این مشاهده به تخریب ساختاری و سپس واکنش بین پلیمرها و مولکول‌های با انرژی زیاد همچون رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده طی حفره‌زایی مربوط می‌شود (Feng *et al*., 2017). بنابراین افزایش دمای فرایند باعث افزایش قدرت جذب آب صمغ تیمار شده و افزایش ویسکوزیته محلول می‌گردد (شکل ۱). اعمال فرایند در دمای بالا به دلیل کاهش اثر فراصوت بر تخریب بیوپلیمرها و کاهش ویسکوزیته ناشی از کوتاه شدن زنجیره آنها موجب کاهش اثر فراصوت و افزایش ویسکوزیته صمغ دانه خرنوب می‌گردد. زانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2013) دریافتند که اثر فراصوت بر تخریب پکتین سیب در محدوده دمایی ۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبتا یکسان است و با افزایش دما از ۲۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد، عملکرد فراصوت بر تخریب مولکول پکتین کاهش می‌یابد. دمای بالا در فرایند فراصوت پیش‌نیازی جهت تشدید حفره-زایی و ایجاد نیروی برشی قوی در حباب‌ها نیست. افزایش دمای واکنش، حفره‌زایی را در شدت فراصوت پایین‌تری ایجاد می‌کند و ایجاد حفره زایی در شدت فراصوت کمتر از شدت تخریب کمتری برخوردار است. این اتفاق با افزایش فشار بخار محلول حرارت دیده نیز ارتباط دارد. از این‌رو، به منظور دستیابی به بیشترین شدت حفره‌زایی فراصوت (عملکرد شکست و تخریب)، باید فرایند در دمای پایین صورت گیرد. تخریب پیوندهای گلیکوزیدی زنجیره اصلی و کاهش تجمع مولکولی[1]، دلیل اصلی کاهش ویسکوزیته پلیمر محسوب می‌گردد (Li *et al*., 2017; Zhang *et al*., 2013). بررسی منابع نشان می‌دهد، با افزایش زمان اعمال تیمار فراصوت در یک قدرت ثابت، ویسکوزیته ظاهری صمغ کتیرا به تدریج کاهش می‌یابد (Farzi *et al*., 2011). اعمال امواج فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه بر محلول نشاسته حاصل از گندم و سیب‌زمینی پس از ژلاتینه شدن آنها نیز نشان از تاثیر امواج در کاهش چشمگیر ویسکوزیته آنها دارد (Lida *et al*., 2008; Sujka *et al*., 2013) نتایج مشابهی توسط دیگر دانشمندان در ارتباط با تاثیر اعمال امواج بر پلیمرهای دیگر همچون کیتوزان و پولولان گزارش شده است (Hosseini *et al*., 2013; Koda *et al*., 2011).

اندازه‌گیری حداقل غلظت ژل دادن

تغییرات متغیر حداقل غلظت ژل‌دهندگی در قالب یک معادله درجه اول که ضرایب آن در جدول ۲ آمده است قابل تفسیر است. خصوصیات ژل‌دهندگی پلیمرها به ترکیبات شیمیایی و وزن مولکولی آنها وابسته است. حداقل غلظت ژل‌دهندگی صمغ دانه خرنوب با افزایش زمان اعمال امواج فراصوت افزایش می‌یابد درحالیکه با افزایش دما، حداقل غلظت ژل دهندگی کاهش یافت. هرچند این تاثیر در دماهای بالاتر کمتر ملاحظه گردید (شکل ۱). به‌نظر می‌رسد تاثیر زمان و دمای فرایند فراصوت بر تغییرات ویسکوزیته ظاهری و حداقل غلظت ژل دهندگی هیدروکلوئید عکس یکدیگر است. درواقع با کاهش ویسکوزیته، حداقل غلظت ژل دهندگی افزایش و با افزایش ویسکوزیته حداقل غلظت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. در دماهای پایین به دلیل تاثیر بیشتر فراصوت، شکست زنجیره صمغ

1- Aggregation

دانه خرنوب بیشتر و در نتیجه حداقل غلظت ژل دادن کاهش می‌یابد. تیمار فراصوت می‌تواند باعث تضعیف برهمکنش‌های درون مولکولی همچون پیوندهای هیدروژنی و دیگر پیوندهای غیرکوالانسی بین مولکول‌های صمغ در محیط آبی و نیز برهمکنش‌های بین مولکولی زنجیرهای بیوپلیمری شود (Li *et al.*, 2017).

خصوصیات امولسیون کنندگی

در معادله درجه دوم پیشنهاد شده برای بررسی تغییرات ابعاد ذرات امولسیون که نتایج آن در جدول ۲ آمده است تنها اثر دما بر توزیع اندازه ذرات معنی‌دار ارزیابی شده است ($p>0/05$). ضریب مثبت و معنی‌دار خطی و مجذور دما بر ابعاد ذرات امولسیون نشان از تاثیر افزایش دما حین اعمال امواج فراصوت بر افزایش ابعاد ذرات امولسیون دارد که به دلیل تاثیر این فاکتور در تجمیع مولکول‌های هیدروکلوئید موجود در امولسیون است. اگرچه بررسی تاثیر فراصوت بر خصوصیات امولسیون‌کنندگی دیگر هیدروکلوئیدها ازجمله هیدروکسی پروپیل متیل سلولز نشان می‌دهد که اندازه ذرات امولسیون‌های تولید شده با هیدروکلوئیدهای تیمار شده به‌مراتب کوچکتر از صمغ تیمار نشده است ولی تاثیر این فاکتور در پژوهش حاضر غیرمعنی‌دار ارزیابی گردید (Camino *et al*., 2009).

تاثیر متقابل زمان اعمال امواج فراصوت و دمای فرایند تا محدوده متوسط رنج مورد بررسی بر پایداری امولسیون مناسب بود (جدول ۲، شکل ۱). نیروی گرانشی، ابعاد ذرات پراکنده، اختلاف دانسیته فاز روغنی و آبی و ویسکوزیته فاز پیوسته از عواملی است که پایداری امولسیون‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Camino *et al.*, 2009). کاهش ویسکوزیته صمغ دانه خرنوب تیمارشده با امواج فراصوت نیز دلیل اصلی کاهش پایداری امولسیون تولیدی با هیدروکلوئید تیمار شده با امواج فراصوت در زمان‌های طولانی است. نتایج مشابهی از بررسی منابع در این خصوص حاصل شده است. دراین راستا گزارش شده است که اعمال امواج فراصوت خصوصا در شرایط اسیدی، موجبات تغییر در خصوصیات مولکولی و خواص عملکردی کیتوزان را فراهم می‌کند (Chen *et al.*, 1997).

جدول ۲- ضرایب مدل‌های برازش یافته بر ویژگی‌هاس کیفی صمغ لوکاست تیمار شده با امواج فراصوت

Table 2- Coefficients of developed models on the quality characteristics of treated Locast been gum using ultrasounic waves

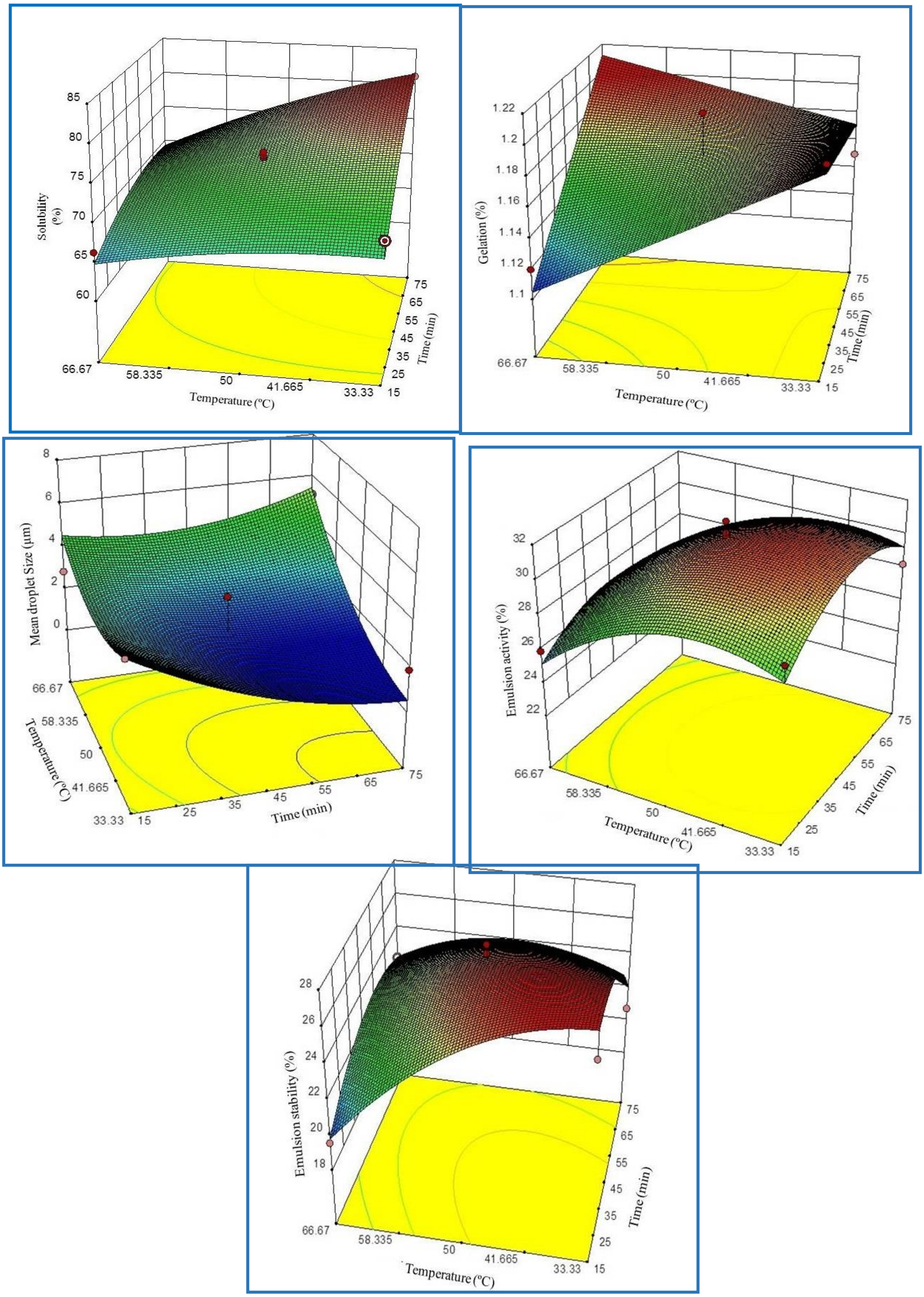
Sources (منابع)	Quality characteristics						
	pH	Solubility (%) حلالیت	Average particle size (µm) میانگین اندازه ذرات	Emulsifying capacity (%) ظرفیت امولسیون کنندگی	Emulsion stability (%) پایداری امولسیون	Minimum gelling concentration (%) حداقل غلظت ژل دادن	Viscosity (cP) ویسکوزیته
Constant coefficient (ضریب ثابت)	5.49	73.88	1.76	31.15	26.53	1.16	87.68
A	-0.045*	4.51*	-0.68ns	0.18ns	-0.79ns	-0.025*	-6.64*
B	-0.056*	-30.83*	1.33*	-1.86*	-1.90*	-0.016*	4.82*
AB	-	-2.22*	1.14ns	-0.35ns	-2.02*	0.040*	-
A^2	-	-1.81*	0.79ns	-2.09*	-1.65*	-	-
B^2	-	-1.04ns	1.14*	-2.20*	-1.92*	-	-
R^2	0.7959	0.9481	0.7529	0.9090	0.9084	0.8159	0.8410
Lack of fit (خطای عدم برازش)	0.2452ns	0.0548ns	0.1113ns	0.0855ns	0.1004ns	0.6848ns	0.0542ns

A: زمان

B: دما

*: معنی‌داری درسطح اطمینان ۹۵درصد

A: Time
B: Temperature
*: Significance at the 95% confidence level


Solubility (%)
Temperature (°C)
Time (min)
Gelation (%)
Mean droplet Size (μm)
Emulsion activity (%)
Emulsion stability (%)
66.67
58.335
50
41.665
33.33
15
25
35
45
55
65
75

شکل ۱- اثر متقابل دما و زمان اعمال امواج فراصوت بر حلالیت، ژله‌ای شدن، میانگین اندازه ذرات، ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون
Fig. 1- Interaction effect of temperature and time of ultrasonic waves on solubility, gelation, average particle size, emulsifying capacity and stability of emulsion

جدول ۳- مقایسه نتایج پیش‌بینی شده واندازه‌گیری شده در نمونه‌های بهینه
Table 3- Comparison of predicted and measured results of optimum samples

Parameters پارامترها	Temperature 40 °C-time 48.9 min			Temperature 66.67 °C-time 15 min		
		Predicted numbers پیش‌بینی شده	Actual numbers اندازه‌گیری شده	Error percentage درصد خطا	Predicted numbers پیش‌بینی شده	Actual numbers اندازه‌گیری شده
Solubility (%) حلالیت	76.50	75.07	1.87	64.80	66.33	2.30
Emulsifying capacity (%) ظرفیت امولسیون کنندگی	31.50	30.66	2.67	25.17	25.92	2.89
Emulsion stability (%) پایداری امولسیون	26.70	26.66	0.15	19.83	19.58	1.27
Viscosity (cP) ویسکوزیته	83.93	86.30	2.82	99.14	95.00	1.35
Minimum gelling concentration (%) حداقل غلظت ژل دادن	1.17	1.25	6.84	1.08	1.15	6.08

بهینه‌یابی و اعتبارسنجی مدل

بهینه‌یابی شرایط اعمال تیمار با درنظر گرفتن دستیابی به بهترین خصوصیات عملکردی هیدروکلوئید موردنظر انجام گرفت. بر این اساس دو شرایط متفاوت دمایی و زمانی برای تیمار کردن هیدروکلوئید موردنظر با استفاده از امواج فراصوت پیشنهاد گردید که در حالت اول معیار انتخاب، دستیابی به بهترین شرایط حلالیت و ویژگی‌های امولسیون کنندگی این هیدروکلوئید و در حالت دوم، ملاک انتخاب شرایط، بهبود حلالیت و خصوصیات امولسیون‌کنندگی هیدروکلوئید هم‌گام با حفظ ژل‌شوندگی محلول هیدوکلوئید موردنظر بود. به‌منظور ارزیابی عملکرد مدل‌های حاصل، تیمار نمونه‌ها در شرایط معرفی شده انجام و با توجه به نتایج آزمایشگاهی حاصل، اعتبارسنجی مدل با استفاده از رابطه ۳ صورت گرفت. شرایط تیمار نمونه‌های بهینه و نتایج واقعی و پیش‌بینی شده و خصوصیات کیفی آنها در جدول ۳ نمایش داده می‌شود.

رابطه (۳) ۱۰۰×اعداد واقعی/اعداد پیش بینی−اعداد واقعی= درصد اعتبار سنجی

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های بهینه و شاهد در جدول ۴ گزارش شده است. حلالیت و فعالیت امولسیون‌کنندگی نمونه بهینه اول (دمای ۴۰ درجه سانتی گرادو زمان ۴۸/۹ دقیقه) با اختلاف معنی‌داری ($p<0.05$) بالاتر از سایر نمونه‌ها ارزیابی شد. در نمونه بهینه دوم نیز (دمای ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) بدون کاهش چشمگیر قدرت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید، حلالیت هیدروکلوئید تیمار شده نسبت نمونه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. فنگ و همکاران (Feng *et al.*, 2017) در خصوص بازآرایی مولکول‌های هیدروکلوئید ازجمله آلژینات سدیم طی فرایند فراصوت گزارش کردند. آنها بیان کردند که پیوندهای کووالانسی بین مولکول‌های کوچک یا برهمکنش‌های غیر کووالانسی همچون الکترواستاتیک با تغییر فرکانس فراصوت، تغییر می‌کند که میتواند دلیل بر تغییرات حلالیت مولکول و سایر خواص عملکردی آن در شدت های متفاوت اعمال امواج باشد. از طرفی نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که اعمال تیمار فراصوت افزایش زمان اعمال امواج می‌تواند باعث کاهش اندازه ذرات بعضی از هیدروکلوئیدها ازجمله صمغ کتیرا شود. این اتفاق نشان دهنده ایجاد شدن ذرات با اندازه کوچکتر و محدوده توزیع اندازه ذرات باریک‌تر است. اگرچه در برخی از گونه‌های صمغ کتیرا، بعد از مدت زمانی که از تیمار فراصوت گذشت، اندازه ذرات آن افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد

طی فرایند فراصوت، شاخه‌ها در ابتدا تحت تأثیر قرار گرفته و دچار شکست می‌شوند. این اتفاق احتمالاً منجر به شکل گیری ستون اصلی بدون شاخه شده که در ادامه می‌تواند در تشکیل توده‌های جدید مؤثر باشد که این توده‌ها می‌توانند توزیع اندازه ذرات را افزایش دهند (Farzi *et al.*, 2011). از این جهت تغییر ساختار هیدروکلوئیدها در اثر اعمال امواج فراصوت، امکان تغییر خصوصیات عملکردی و بهبود آن‌ها در راستای کاربرد موردنظر را فراهم می‌سازد.

بررسی و مقایسه بهتر ویژگی‌های کیفی نمونه‌ها با ارزیابی طیف‌سنجی مادون قرمز، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و خصوصیات رئولوژیکی دینامیک دو نمونه بهینه با نمونه شاهد (B) انجام شد.

طیف سنجی مادون قرمز

شکل ۲، طیف FTIR نمونه‌های صمغ دانه خرنوب معمولی و تیمار شده با امواج فراصوت را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود تمامی نمونه‌ها پیک‌های جذب مشخصی را نشان می‌دهند.

در طیف مادون قرمز نمونه شاهد، باند cm^{-1} ۳۳۵۰/۳۳ نشان دهنده نوسان کششی گروه هیدروکسیل (-OH) است. باند cm^{-1} ۲۹۲۹/۱۵ مربوط به کشش C-H گروه‌های $–CH_2$ می‌باشد. باند مربوط به کشش حلقه گالاکتوز و مانوز در cm^{-1} ۱۶۴۱/۷۲ ظاهر شد. به علاوه، باندهای ناحیه cm^{-1} ۱۴۵۰–۱۳۵۰ مربوط به تغییرات خمشی گروه‌های CH_2 و COH است. باندهای مربوط به حرکت کششی گروه الکلی اولیه $CH_2OH–$ و نوسانات جفتی CH_2 به ترتیب در ۱۰۶۴/۱۴ و cm^{-1} ۱۰۲۴/۴۱ قرار دارند. باندهای ضعیف‌تر در محدوده ۸۷۲/۸۱ و cm^{-1} ۸۰۷/۹۳ مربوط به کشش حلقه و تغییرات حلقه پیوندهای آلفا–دی–(۱–۴) و آلفا–دی–(۱–۶) هستند (Li *et al.*, 2017). شباهت زیاد بین طیف FTIR صمغ دانه خرنوب معمولی و فراصوت شده نشان می‌دهد که ساختار اولیه و واحدهای صمغ دانه خرنوب تحت تأثیر فراصوت قرار نگرفته است و کلیه پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی صمغ دانه خرنوب با تغییرات اندکی در طول موج در نمونه‌های تیمار شده نیز ظاهر شدند ولی واحد جذب باندهای مشاهده شده در نمونه شاهد بیش از نمونه های بهینه است. این مشاهدات نشان‌دهنده تاثیر امواج فراصوت بر شدت پیوندهای بین مولکولی بدون تغییر چشمگیر در ساختار شیمیایی صمغ نهایی است. مشاهدات مشابهی مبنی بر تاثیر ناچیز امواج فراصوت در گروه‌های عاملی صمغ کونجاک توسط دانشمندانی نیزگزارش شده است (Li *et al.*, 2017).

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصاویر ریزساختاری مربوط به صمغ دانه خرنوب معمولی و تیمار فراصوت شده در شکل ۳ نشان داده شده است. تصاویر میکروسکوپی نشان می‌دهد که هر سه نمونه دارای ساختار سه بعدی هستند که جهت جذب آب و افزایش ویسکوزیته محلول ضروری است.

جدول ٤- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های بهینه و شاهد

Table 4- Mean comparison of physicochemical properties of optimum and control samples

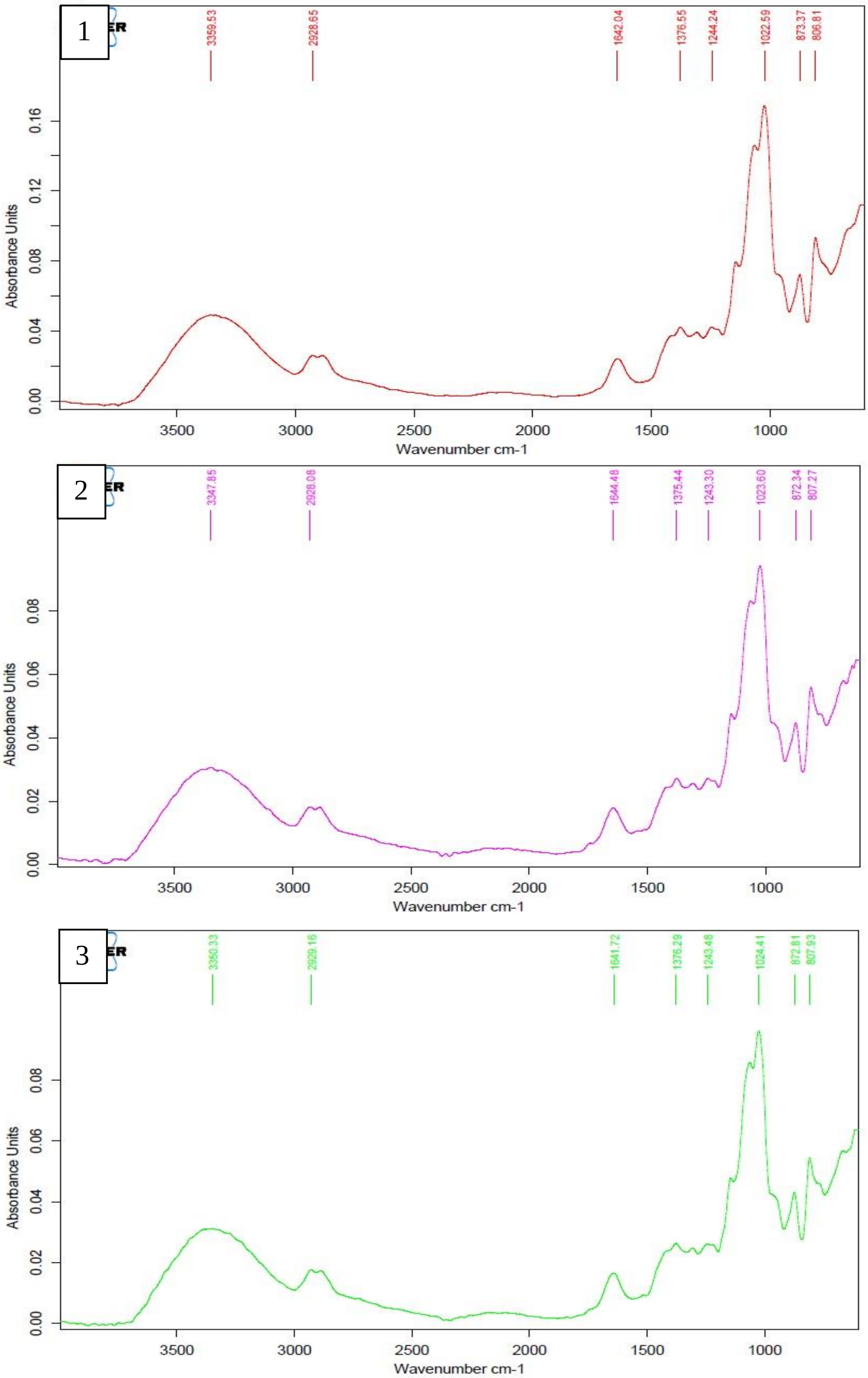
Parameters پارامترها	Optimum 1 بهینه ۱	Optimum 2 بهینه ۲	Blank شاهد
Solubility (%) حلالیت	75.07^{a}±1.41	66.30^{b}±1.13	57.85^{c}±2.83
Emulsifying capacity (%) ظرفیت امولسیون کنندگی	30.66^{a}±0.71	25.92^{b}±1.41	27.48^{ab}±1.98
Emulsion stability (%) پایداری امولسیون	26.66^{a}±1.00	19.58^{b}±1.41	26.92^{a}±2.69
Viscosity (cP) ویسکوزیته	86.03^{c}±1.41	95.00^{b}±2.83	111.00^{a}±1.41
Minimum gelling concentration (%) حداقل غلظت ژل دادن	1.25^{a}±0.01	1.15^{b}±0.01	1.05^{b}±0.01

– حروف غیر مشترک در هر ردیف ، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

– بهینه ۱: صمغ تیمار شده با امواج اولتراسونیک در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۸/۹ دقیقه

– بهینه ۲: صمغ تیمار شده با امواج اولتراسونیک در دما ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه

- Non-common letters in each row indicate a significant difference at the 0.05 level.
- Optimum 1: gum treated with ultrasonic waves at a temperature of 40 °C and a time of 48.9 min.
- Optimum 2: gum treated with ultrasonic waves at a temperature of 66.67°C and a time of 15 min.

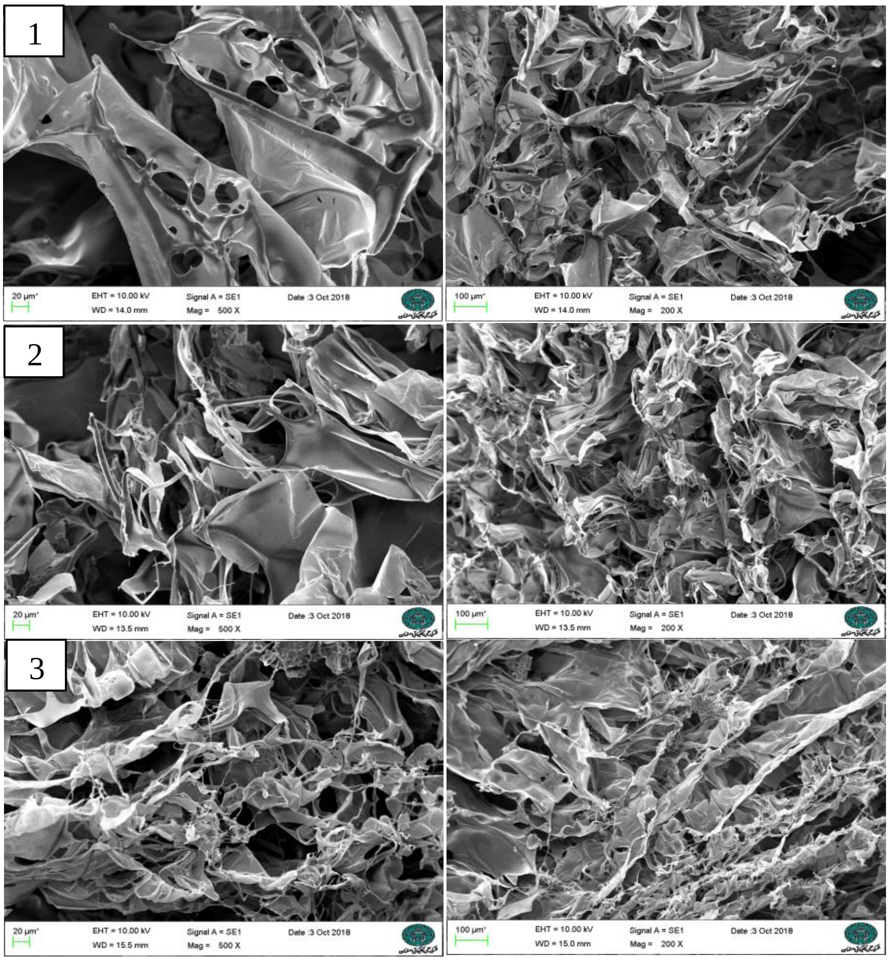


شکل ۲- طیف‌سنجی مادون قرمز نمونه‌های صمغ دانه خرنوب فراصوت شده در شرایط بهینه و نمونه شاهد

(۱- شاهد، ۲- زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۶۶٫۶ درجه سانتی گراد، ۳- زمان ۴۸٫۹ دقیقه، دما۴۰ درجه سانتی‌گراد)

Fig. 2- FTIR spectra of ultrasonicated locust bean gum in optimum and control samples

(1. blank; 2. time: 15 min, temprature: 66.6 ºc; 3. time: 48.9, temprature: 40 ºc)



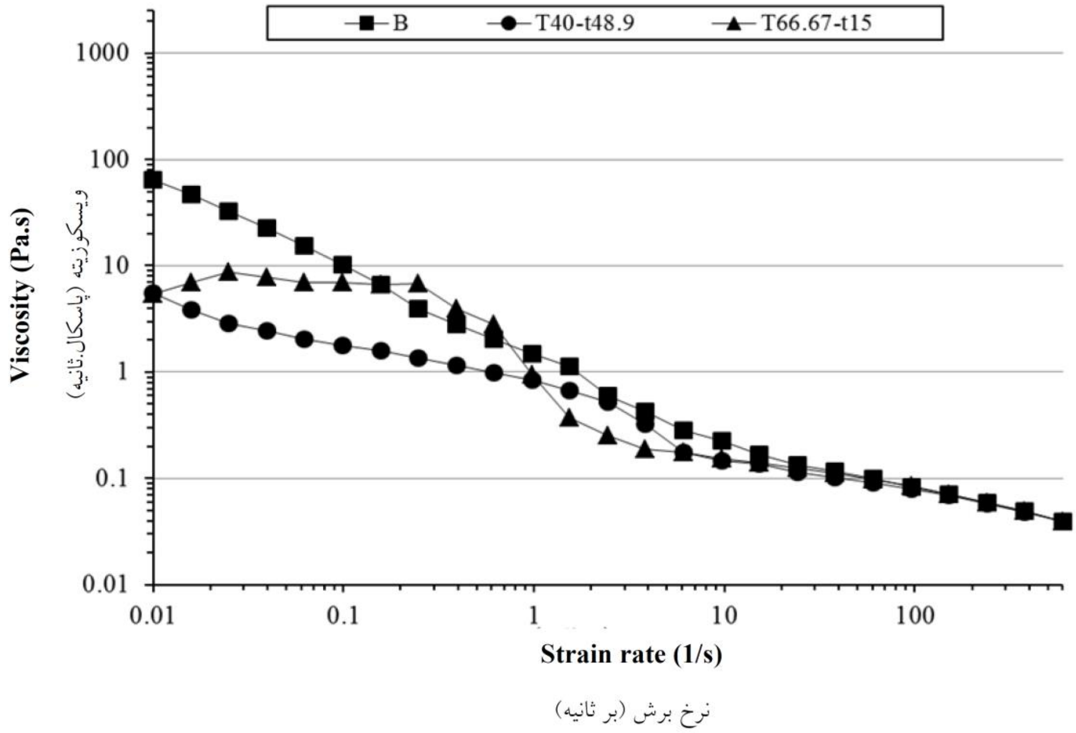
شکل ۳- تصویر میکروسکوپی از نمونه‌های صمغ دانه خرنوب فراصوت شده

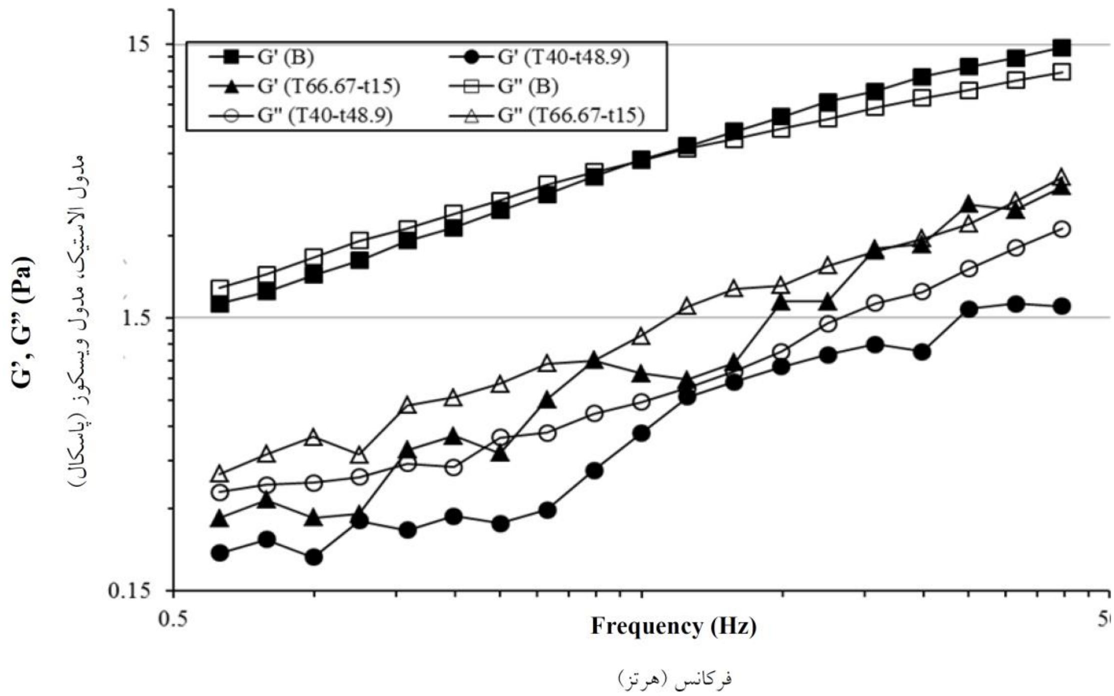
(ستون سمت راست بزرگنمایی ۲۰۰× و ستون چپ بزرگنمایی ۵۰۰×)ردیف اول و دوم و سوم به ترتیب (۱- زمان ۴۸/۹ دقیقه، دما۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۲- زمان ۱۵دقیقه و دمای ۶۶/۶ درجه سانتی‌گراد و ۳- شاهد) هستند.

Fig. 3- SEM micrographs of ultrasonicated locust bean gum samples

(Magnification 200× at right column and magnification 500× at left column) (1: Time: 48.9 min, temperature: 40 ºC, 2: Time: 15 min, temperature: 66.67 ºC, 3: blank)

مطابق شکل ۳، فراصوت موجب درشت‌تر شدن ساختار سه بعدی صمغ دانه خرنوب شده است. ریزترین ساختار سه‌بعدی در نمونه شاهد و درشت‌ترین ساختار در صمغ دانه خرنوب تیمار شده به مدت ۴۸/۹ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد مشاهده می‌گردد. از این‌رو، فراصوت باعث توده‌ای شدن صمغ دانه خرنوب خشک‌شده به طریق انجمادی گردید. این مشاهده ناشی از وجود بخش‌های هیدروفوبیک در ساختار این صمغ است که باعث اتصالات سریع آن پس این فرایند می‌شود (Camino *et al.*, 2009). بررسی خصوصیات فیزیکی و ارزیابی تصاویر میکروسکوپی صمغ دانه خرنوب ایرانی در مطالعات گذشته نشان داد که این صمغ توانایی پراکنده شدن در آب و تشکیل شبکه سه بعدی به منظور به دام انداختن مولکول‌های آب و افزایش ویسکوزیته محلول را دارد (Darab zadeh *et al.*, 2010). قابل توجه است که در نمونه‌های فراصوت شده منافذی در ساختار صمغ مشاهده می‌گردد که می‌تواند موجب افزایش حلالیت صمغ تیمار شده با فراصوت گردد. مطالعات دیگر انجام شده در خصوص بررسی تاثیر فراصوت بر ویژگی‌های کیفی هیدروکلوئیدهای دیگر نتایج مشابهی را نشان می‌دهد. توده‌های بزرگی از هیدروکسی پروپیل متیل سلولز طی مجاورت با امواج فراصوت تشکیل گردید که این مشاهده ناشی از وجود بخش‌های هیدروفوبیک در ساختار این صمغ است که باعث اتصالات سریع آن پس ازفرایند می‌شود (Camino *et al.*, 2009). در نشاسته سیب‌زمینی نیز اعمال امواج فراصوت، ایجاد ترک‌خوردگی و فرورفتگی‌هایی را درسطح گرانول‌ها ایجاد می‌کند (Sujka *et al.*, 2013).





شکل ٤- خصوصیات رئولوژیکی محلول صمغ دانه خرنوب (غلظت ۰/۵٪ وزنی/وزنی) شاهد و تیمار شده در شرایط بهینه با امواج اولتراسونیک

Fig. 4- Rheological properties of locust bean gum (0.5% w/w) solution in the control and the treated samples under optimum conditions using ultrasonic waves

آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک (پایا و نوسانی)

با توجه به شکل ۴، نمودارهای رفتار جریانی نمونه‌های فراصوت شده و نمونه شاهد نشان داد که ویسکوزیته تمام نمونه‌ها با افزایش تنش برشی کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده رفتار رقیق‌شوندگی با برش آنهاست. در نرخ‌های برشی پایین (حدود ۰/۰۱ بر ثانیه)، ویسکوزیته نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های فراصوت شده بیشتر است. اما در نرخ برشی بالا (حدودا ۴۰ بر ثانیه)، ویسکوزیته سه نمونه اختلاف ناچیزی باهم دارند و تقریبا باهم مشابهند. این مشاهده بیانگر تاثیرپذیری بیشتر نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده به تنش برشی اعمال شده بر آنهاست. مقایسه رفتار دو نمونه فراصوت شده با هم نیز نشان می‌دهد که در بیشتر محدوده برشی مورد بررسی، ویسکوزیته نمونه تیمار شده در دمای ۶۷ به مدت ۱۵ دقیقه بیش از نمونه دیگر است.

با توجه به شکل ۴، مدول الاستیک (G’) و ویسکوز (G’’) نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد کم‌تر است. همچنین، منحنی روبش فرکانس نمونه‌ها نشان می‌دهد که در محدوده فرکانس مورد بررسی، G’ و G’’ به فرکانس وابسته هستند و با افزایش فرکانس، میزان این دو پارامتر افزایش می‌یابد. این مشاهده نشان‌دهنده تاثیرپذیری خصوصیات رئولوژیکی نمونه‌ها به تغییرات فرکانس است که عموما در سوسپانسیون‌ها ملاحظه می‌شود. در فرکانس‌های پایین، غلبه رفتار ویسکوز بر الاستیک در هر سه نمونه شاهد و فراصوت شده (G’’>G’) ملاحظه می‌شود و این ویژگی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد بیشتر است. مدول الاستیک و ویسکوز نمونه تیمار شده به مدت ۴۹ دقیقه کمتر از نمونه فراصوت دیده به مدت ۱۵ دقیقه است که نشان از تأثیر اعمال فراصوت در شکست ساختاری هیدروکلوئید و تاثیر آن بر تضعیف خصوصیات رئولوژیکی هیدروکلوئید دارد.

در نمونه شاهد در حدود فرکانس ۵ هرتز، مدول G’ و G’’ با هم تلاقی می‌کند و پس از آن رفتار جامد ویسکوالاستیک مشاهده می شود. تلاقی مدول الاستیک و ویسکوز در نمونه‌های تیمارشده نیز مشاهده می‌شود. هرچند تغییر رفتار رئولوژیکی نمونه‌ها چندان محسوس نیست. به طور کلی خصوصیات رئولوژیکی به استحکام پیوندهای بین مولکولی و شکل مولکول در حالت محلول بستگی دارد. ویسکوزیته با برهمکنش‌های پیچیده حلال–مولکول در ارتباط است. اندازه، شکل و نیز انعطاف پذیری مولکولی پلیمر هم از اهمیت ویژه‌ای در این خصوص برخوردار است (Feng *et al*., 2017). بررسی منابع نشان می‌دهد که مشابه نتایج به دست آمده در این پژوهش، کاهش اندیس قوام هیدروکلوئیدهای گوار، پکتین و زانتان و مشاهده رفتار نیوتنی در آنها با افزایش اعمال شدت امواج فراصوت توسط تیواری و همکاران (Tiwari *et al*., 2010) گزارش شده است. نتایج مشابهی برای پکتین سیب فراصوت شده نیز مشاهده گردید (Tiwari *et al*., 2010)

نتیجه‌گیری

تیمار فراصوت جزء فرایندهای نسبتا محسوب می‌شود و کاربردهای متنوعی در صنایع مختلف ازجمله صنعت غذا دارد. در این پژوهش تأثیر زمان اعمال امواج فراصوت و دمای فرایند بر خصوصیات عملکردی صمغ دانه خرنوب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که امواج فراصوت تاثیر چشمگیری بر ویژگی‌های فیزیکی این هیدروکلوئید دارد. با افزایش زمان اعمال تیمار فراصوت، pH و ویسکوزیته محلول هیدروکلوئید کاهش و حلالیت آن افزایش می‌یابد. درحالی‌که، با افزایش دمای فرایند pH، ویسکوزیته و میانگین اندازه ذرات امولسیون حاصل از صمغ دانه خرنوب افزایش و حلالیت هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. پس از مدلسازی متغیرهای مورد نظر، با درنظرگرفتن دستیابی به ویژگی‌های عملکردی بهتر، دو شرایط دمایی و زمانی متفاوت به عنوان شرایط بهینه جهت تیمار نمونه‌ها معرفی شدند. حلالیت و فعالیت امولسیون‌کنندگی نمونه بهینه اول (فراصوت شده در۴۰ درجه سانتیگراد به مدت زمان ۴۸/۹ دقیقه) با اختلاف معنی‌داری ($p<0.05$) بالاتر از سایر نمونه‌ها ارزیابی شد و افزایش ۲۹/۷ درصد و ۱۱/۵ درصد نسبت به نمونه شاهد نشان داد. نمونه تیمارشده در شرایط بهینه دوم (دمای ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) نیز بدون کاهش چشمگیر قدرت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید، نسبت نمونه شاهد، افزایش حلالیت ۱۴/۶ درصدی نشان داد. تعدد و نوع پیک طیف مادون قرمز نمونه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت چندانی باهم نشان نمی‌دهند. درحالیکه بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان از ایجاد منافذ در ساختار توده‌ای شده صمغ دانه خرنوب تیمار فراصوت شده دارد که قطعا بر خصوصیات عملکردی آن تاثیرگذار است. ارزیابی رفتار رئولوژیکی نمونه‌ها نشان از رفتار سودوپلاستیک محلول صمغ دانه خرنوب داشت و نمونه‌های تیمار شده در سرعت‌های برشی پایین ویسکوزیته ظاهری کمتری در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند، درحالی‌که در سرعت‌های برشی بالاتر تفاوت چندانی در ویسکوزیته نمونه‌ها مشاهده نشد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که امواج فراصوت به‌خوبی امکان تغییر خصوصیات فیزیکی و عملکردی صمغ دانه خرنوب را فراهم می‌کند. امکان بهبود چشمگیر حلالیت و فعالیت امولسیون کنندگی این هیدروکلوئید با استفاده از امواج فراصوت فراهم است. لذا، تعیین شرایط تیمارکردن نمونه با توجه به کاربرد موردنظر ضرورت دارد.

منابع

1. Barak, S., & Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: processing, properties and food applications-a review. *International Journal of Biological Macromolecules, 66*, 74-80. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.017
2. Camino, N.A., Pérez, O.E., & Pilosof, A.M. (2009). Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, *23*, 1089-1095. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.015
3. Chen, R.H., Chang, J.R., & Shyur, J.S. (1997). Effects of ultrasound conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan. *Carbohydrate Research*, *299*, 287–294. https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)00019-0
4. Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, *17*, 25-39. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5
5. Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, *23*, 1473-1482. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005
6. Darab Zadeh, N., & Farahnaki, A. (2010). *The comparison of physicochemical and rheological properties between Iranian and commercial carob bean gum*. In proceedings of 19th National Congress on Food Science and Technology, 12– 13 Nov., Tehran University, Tehran-Iran.
7. Farzi, M., Saffari, M.M., Emam- Djomeh, Z., & Mohammadifar, M.A. (2011). Effect of ultrasonic treatment on the rheological properties and particle size of gum tragacanth dispersions from different species. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*, 849-854. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02558.x
8. Feng, L., Cao, Y., Xu, D., Wang, S., & Zhang, J. (2017). Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 609-615. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.038
9. Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, *15*, 533-542. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1
10. Hosseini, S.M.H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S.H., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2013). Beta-Lactoglobuline-sodium alginate interaction as affected by polysaccharide depolymerization using high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, *32*, 235–244. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.002
11. Koda, S., Taguchi, K., & Futamura, K. (2011). Effects of frequency and a radical scavenger on ultrasonic degradation of watersoluble polymers. *Ultrasound Sonochemistry*, *18*, 276–281. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.06.007
12. Li, J., Li, B., Geng, P., Song, A.X., & Wu, J.Y. (2017). Ultrasonic degradation kinetics and rheological profiles of a food polysaccharide (konjac glucomannan) in water. *Food Hydrocolloids*, *70*, 14-19. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.022
13. Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A., & Kozuka, T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *9*, 140–146. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.029
14. Mason, T.J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J.P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *3*, 253-260. https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034-X
15. Mishra, S., Mann, B., & Joshi, V.K. (2001). Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin. *Food Hydrocolloids*, *15*, 9-15. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00043-6
16. Peres, G.L., Leite, D.C., & Silveira, N.P.D. (2015). Ultrasound effect on molecular weight reduction of amylopectin. *Starch‐ Stärke*, *67*, 407-414. https://doi.org/10.1002/star.201400230
17. Prajapat, A.L., & Gogate, P.R. (2015). Depolymerization of guar gum solution using different approaches based on ultrasound and microwave irradiations. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *88*, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.cep.2014.11.018
18. Razavi, S.M.A., Bostan, A., Niknia, S., & Razmkhah, S. (2011). Functional properties of hydrocolloid extracted from selected domestic Iranian seeds. *Journal of Food Research*, *21*(3), 379-389.
19. Samari Khalaj, M., & Abbasi, S. (2014). Influence of chemical modification on solubility of insoluble fraction of Persian gum. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, *3*(2), 171-184. https://doi.org/10.22101/JRIFST.2014.08.23.326
20. Sujka, M., & Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloid*, *31*, 413–419. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.027
21. Tiwari, B.K., Mthkmarappan, K., O'Donnell, C.P., & Cllen, P.J. (2010). Rheological Properties of Sonicated Guar, Xanthan and Pectin Dispersions. *International Journal of Food Properties*, 13, 223-233. https://doi.org/10.1080/10942910802317610

22. Wang, Z.M., Cheung, Y.C., Leung, P.H., & Wu, J.Y. (2010). Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight exopolysaccharide produced by a medicinal fungus. *Bioresource Technology*, 101, 5517-5522. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.134
23. Wang, Z., Han, F., Sui, X., Qi, B., Yang, Y., Zhang, H., & Jiang, L. (2016). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico- chemical properties of conjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(5), 1532-1540. https://doi.org/10.1002/jsfa.7255
24. Zhang, L., Xingqian, Y., Sophia, J.X., Xianzhong, Z., Donghong, L., Ruifeng, M., & Shiguo, C. (2013). Effect of high-intensity ultrasound on the physicochemical properties and nanostructure of citrus pectin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 2028-2036. https://doi.org/10.1002/jsfa.6011